

ПОЛУЧЕНИЕ ТОКСИЧЕСКОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ СИНДРОМА ПАРКИНСОНИЗМА У КРЫС

АЛЕЙНИКОВА Н.Е.¹, БОЙКО А.В.¹, НИЖЕГОРДОВА Д.Б.¹, ПОНОМАРЕВ В.В.¹,
ВАНСЛАВ М.И.¹, УСТЕМЧУК А.М.¹, ИГНАТОВИЧ Т.В.¹, КУЗНЕЦОВА Т.Е.²,
ГЛАДКОВА Ж.А.², ЗАФРАНСКАЯ М.М.¹

¹Белорусская медицинская академия последипломного образования, г. Минск, Республика Беларусь

²Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2018. – Том 17, №6. – С. 92-99.

THE OBTAINING OF TOXIC CHRONIC MODEL OF PARKINSONISM SYNDROME IN RATS

ALEINIKAVA N.Y.¹, BOIKA A.V.¹, NIZHENARODAVA D.B.¹, PONOMAREV V.V.¹, VANS LAU M.I.¹,
USTSIAMCHUK A.M.¹, IHNATOVICH T.V.¹, KUZNETSOVA T.Y.², HLADKOVA Z.A.², ZAFRANSKAYA M.M.¹

¹Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education, Minsk, Republic of Belarus

²Institute of Physiology of the Belarusian National Academy of Sciences, Minsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2018;17(6):92-99.

Резюме.

Исследование моделей паркинсонического синдрома (ПС) *in vivo* и *in vitro* позволяет косвенно судить о процессах, протекающих в дофаминпродуцирующих нейронах головного мозга человека. Нейротоксины используются для избирательной гибели нейронов черной субстанции (ЧС) при моделировании ПС.

Цель – разработка хронической токсической экспериментальной морфологически подтвержденной модели ПС у крыс при системном введении ротенона.

Материал и методы. Белые беспородные самки массой тела 250-350 г (n=80). Для растворения ротенона использовали растворитель (99% диметилсульфоксид (ДМСО):20% Lipovenos, 1:1). Ротенон вводили подкожно в роstralные участки межлопаточной области в дозах 1,75 мг/кг и 2,0 мг/кг (основная группа, n=60). Контрольную группу составили животные, которым при всех тех же условиях вводили только растворитель в эквивалентном объеме (n=20). Использовали индивидуальную идентификацию крыс. Рандомизацию по группам осуществляли случайным путем. Фронтальные срезы головного мозга толщиной 7 мкм готовили на микротоме-криостате НМ 525. Для светооптического исследования срезы окрашивали тионином, метиленовым синим по Нисслю и гематоксилин-эозином. Использовали микроскоп Altamі LUM-1 с цифровой камерой и программным обеспечением при увеличении объектива 40х.

Результаты. В основной группе животных клинические симптомы, характерные для экспериментального ПС, развивались спустя 3-е суток после введения ротенона. В контрольной группе клинические признаки ПС отсутствовали и морфологические изменения нейронов ЧС не выявлены. В основной группе в ЧС после первоначального ежедневного введения ротенона в дозе 1,75 и 2 мг/кг наблюдали выраженные морфологические деструктивные изменения. При микроскопии в ЧС было значительное число клеток с деструктивными и дистрофическими изменениями, также в ряде нейронов ЧС обнаружены тельца Леви.

Заключение. Получение хронической нейротоксической модели ПС, отражающей классическую симптоматику болезни Паркинсона, требует соблюдения всех требований к качеству проводимого эксперимента.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, моделирование на крысах, ротенон, морфология, тельца Леви.

Abstract.

Introduction. The investigation of parkinsonian syndrome (PS) models *in vivo* and *in vitro* allows to indirectly judge about the processes taking place in the living human cells. Neurotoxins are used for obtaining selective death of black substance (BS) neurons in PS modelling.

Objectives. To create chronic toxic experimental morphologically confirmed model of PS in rats on systemic administration

of rotenone.

Material and methods. White mongrel female rats weighing 250-350 g (n=80) were used. The following solvent was made use of to dissolve rotenone – 99% dimethylsulfoxide (DMSO):20% Lipovenos, 1: 1. Rotenone was administered subcutaneously in the rostral parts of the interscapular area at the doses of 1,75 mg / kg and 2,0 mg / kg (main group, n=60). The control group (n=20) consisted of animals, which under the same conditions were injected with the solvent in an equivalent volume. The individual identification of rats was used. Frontal sections of the brain with a thickness of 7µm were prepared on the microtome-cryostat HM 525. For the light-optical examination, the sections were stained with thionine and methylene blue according to Nissl and hematoxylin-eosin. Altami LUM-1 microscope with a digital camera and software with an 40x lens increase was used. **Results.** In the main group, the clinical symptoms characteristic of experimental PS developed in 3 days after the introduction of rotenone. In the control group, there were no clinical signs of PS. After the introduction of the solvent, no significant structural changes in the neurons of the rats' black substance were detected. In the main group in the black brain substance of rats, after the initial daily administration of rotenone at the dose of 1,75 and 2 mg / kg, pronounced destructive changes were observed. Microscopy revealed in the black substance a considerable number of cells with destructive and dystrophic changes, in some neurons of the black substance Lewy bodies were also found. **Conclusions.** It is necessary to satisfy all the requirements on the quality of the experiment being conducted to obtain chronic neurotoxic model of PS, reflecting the classical symptomatology of PD.

Key words: Parkinson's disease, modelling on rats, rotenone, morphology, Lewy bodies.

Болезнь Паркинсона (БП) является одним из наиболее распространенных дегенеративных заболеваний нервной системы. Во всем мире частота БП неуклонно нарастает, что связано с увеличением числа лиц пожилого и старческого возраста. Основная проблема изучения этиологии и патогенеза БП связана с отсутствием возможности у исследователей фиксировать процессы, протекающие в живых клетках человека. Во всем мире эта проблема решена путем создания моделей паркинсонического синдрома (ПС) *in vivo* (на лабораторных животных) или *in vitro*. ПС – это близкий по проявлениям к БП симптомокомплекс, который объединяет экстрапирамидные симптомы различной этиологии. Несмотря на различие причин, важно, что патоморфологическая основа всех проявлений ПС одинакова – это нейродегенеративный процесс преимущественно в нейронах чёрной субстанции (ЧС) головного мозга [1].

Несмотря на несомненный прогресс в изучении БП за последние 30 лет, до сих пор мы недостаточно знаем о молекулярной и клеточной биологии этого заболевания. Малоизвестно, почему и каким путем дегенеративный процесс при БП инициализируется и развивается в ЧС. Среди различных известных моделей ПС нейротоксины остаются наиболее популярным средством для получения избирательной гибели нейронов ЧС в моделях *in vivo* и *in vitro*. Для создания нейротоксических моделей на лабораторных животных используют химические вещества, селективно нарушающие функцию катехоламинергических систем головного мозга [2].

In vitro главным образом используются модели с применением экзогенных (ротенон, паракват и метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин (МФТП) и эндогенных (6-гидроксидофамин, 1-метил-4-фенилпиридиния+ (МФП+), L-ДОПА) нейротоксинов [3]. Разные химические вещества воспроизводят различные морфологические, биохимические и клинические признаки ПС, поэтому каждая модель имеет свои преимущества и недостатки, а их выбор зависит от конкретных задач исследования. Так, в резерпиновой и метамфетаминовой моделях введение нейротоксинов вызывает истощение катехоламинов в нейронах центральной нервной системы (ЦНС), однако не вызывает свойственных для БП морфологических дегенеративных изменений в нейронах ЧС, воспроизводимые признаки характеризуются кратковременностью и обратимостью. Модель с применением 6-гидроксидофамина (6-OHDA) характеризуется избирательностью накопления нейротоксина в катехоламинергических нейронах, вызывая их дегенерацию и развитие типичных двигательных нарушений. Однако эта модель не воспроизводит все клинические и патологические признаки ПС, т.к. токсин не действует на другие структуры мозга, вовлекаемые в патологический процесс, и не приводит к формированию α-синуклеиновых включений [4]. Несмотря на это, данная модель является одной из наиболее удачных и широко применяется исследователями в оценке эффектов противопаркинсонических препаратов и нейротрансплантации [5]. Разработаны модели с использованием гербицидов, таких как паракват и манеб, которые вызы-

вают дозозависимое уменьшение числа нейронов ЧС головного мозга; модель с 3-нитротирозином, которые используют преимущественно для оценки окислительного стресса в патогенезе нейродегенеративного процесса. Однако эти модели не соответствуют характеру течения БП у человека и могут быть использованы только для решения специфических задач.

Среди всех известных экспериментальных моделей ПС особое внимание заслуживает модель с хроническим системным введением ротенона – пестицида и мощного ингибитора митохондриального комплекса [4]. Ротенон обладает высокой липофильностью и, таким образом, легко проникает во все органы, включая головной мозг. После однократной внутривенной инъекции ротенон достигает максимальной концентрации в ЦНС в течение 15 мин и снижается примерно до половины этого уровня менее чем за 2 часа. Распределение его в головном мозге гетерогенно, и определяется региональными различиями в окислительном метаболизме. Ротенон свободно проникает через все клеточные мембраны и может накапливаться в субклеточных органеллах, таких как митохондрии. С другой стороны, системное введение часто вызывает токсические эффекты и высокую летальность у экспериментальных животных, степень которой связана с используемой дозой и качеством выполняемых процедур. К настоящему времени наиболее часто применение ротенона проводится по одной из разработанных схем системного введения нейротоксических препаратов – острая, подострая и хроническая. Острая схема предполагает одно или несколько введений токсина в течение одного-двух дней. Однократное введение большой дозы вызывает большую смертность животных, что существенно снижает ценность модели. Высокой летальности можно избежать при использовании многократного введения препарата в меньшей разовой дозе, поэтому в эксперименте чаще используют подострые схемы введения в течение 5-10 дней или хронические – 3-4-5 недель. При этом происходит значительное снижение содержания дофамина при менее выраженной гибели нейронов ЧС по сравнению с контролем [6]. Предполагается, что при остром введении токсина гибель нейронов ЧС происходит путем некроза, в то время как при подострой схеме введения нейротоксина – путем апоптоза [7]. Длительное системное введение нейротоксинов позволяет приблизить модель к формированию хронического нейродегенера-

тивного процесса, что наиболее соответствует течению классической БП. Весьма ценным при изучении БП является морфологическая оценка биообразцов на разных сроках постановки эксперимента.

Создание адекватной экспериментальной модели ПС является важным этапом разработки новых методов терапии неврологических заболеваний, включая использование клеточных технологий. Публикации, посвященные данной теме [9], детально не описывают постановку экспериментов, позволяющих получить морфологически подтвержденную нейродегенерацию, что ведет к затруднениям получения модели ПС у исследователей, не обладающих большим опытом.

Цель исследования – разработка хронической токсической экспериментальной модели ПС у крыс, подтвержденной морфологически, при системном введении ротенона.

Материал и методы

Экспериментальные данные получены в опытах на белых крысах массой тела 250-350 г (n=80). Животных содержали в стандартных условиях вивария ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования» (температура воздуха $23 \pm 1^\circ\text{C}$, вентиляционный режим 30 мин/ч) при свободном доступе к воде и пище, на одинаковом рационе в соответствии с нормами содержания лабораторных животных, с соблюдением светового и шумового режимов. Все эксперименты выполнены с учетом рекомендаций Европейской конвенции о гуманном обращении с лабораторными животными. Проведение исследования было одобрено этическим комитетом ГУО БелМАПО (протокол №3 от 02.10.2017г.).

Эксперимент начинали в одно и то же время суток – утром, учитывая хронобиологическую зависимость большинства физиологических и биохимических процессов в организме крысы. Индивидуальная идентификация – окраска различных участков шерстного покрова спиртовым раствором пикриновой кислоты. С целью выявления признаков паркинсонизма и оценки тяжести ПС у крыс проводили общий осмотр.

Для растворения ротенона использовался растворитель 99% диметилсульфоксид (ДМСО):20% Lipovenos, 1:1. В начале эксперимента при подкожном пути введения ротенона в ростральные участки межлопаточной области в дозах 1,75 мг/кг и 2,0 мг/кг ежедневно, кроме

субботы и воскресенья, мы наблюдали высокую смертность лабораторных животных (более 70%) начиная с первых суток введения препарата. В клинической картине у них выявили выраженную олиго-, брадикинезию. При этом морфологические признаки, характерные для ПС у этих крыс, не успевали сформироваться (смотри результаты гистологических исследований, представленные ниже).

После обсуждения первоначальных неудовлетворительных результатов было решено изменить методические особенности работы с экспериментальными животными следующим образом:

- для уменьшения болевых реакций у крыс использовали только инсулиновые шприцы (один шприц – одна инъекция – одно лабораторное животное);

- предварительно, в течение одной-двух недель до начала эксперимента, животных приручали к рукам (хендлинг);

- для снижения частоты формирования внутримышечных и подкожных инфильтратов инфузии выполнялись только после предварительного пальпаторного обследования роstralной области с обнаружением мест, подходящих для инъекций (без инфильтратов);

- в экспериментах с хроническим введением ротенона использовали методику подкожных инъекций: инсулиновый шприц брали в руку таким образом, чтобы мизинец придерживал канюлю иглы под углом 30-45 градусов, затем свободной рукой делали небольшую складку кожи и осуществляли введение препарата. Предварительно место инъекции обрабатывали спиртовым раствором. Если спустя некоторое время на месте введения образовалось уплотнение, ротенон в эту область больше не вводили;

- для уменьшения токсического эффекта ротенона частота его введения была снижена до 4-х в неделю (понедельник-вторник, четверг-пятница). Ротенон вводили в течение 3-х недель.

- дозирование ротенона лабораторным животным осуществлялось под строгим контролем минимальной рекомендуемой вводимой дозы (2.0 мг\кг массы тела животного), учитывая значительное снижение массы тела животных в ходе эксперимента.

Развитие нейродегенеративных изменений в головном мозге крысы при моделировании ПС после введения ротенона подтверждали морфологически. Для этого животных декапитировали,

извлекали головной мозг, после чего его замораживали (для исключения артефактов). Далее нефиксированный мозг помещали на криостатный блок. Фронтальные срезы мозга толщиной 7 мкм готовили на микротоме-криостате НМ 525 (производитель «Mісrom», Германия). Уровень срезов определяли по стереотаксическому атласу мозга крысы. Для светооптического исследования срезы окрашивали тионином и метиленовым синим по Нисслю и гематоксилин-эозином. Изучение микропрепаратов и изготовление микрофотографий проводили с помощью микроскопа Altamі LUM-1 с цифровой камерой и программным обеспечением при увеличении объектива 40х.

Контрольную группу составили животные, которым при всех тех же условиях вводили растворитель (ДМСО: 20% Lipovenos, 1:1) в эквивалентном объеме (n=20). Рандомизацию по группам осуществляли случайным образом.

Результаты и обсуждение

При создании моделей хронического нейродегенеративного процесса исследователям необходимо учитывать тот факт, что проявления ПС носят волнообразный характер. Так, в моделях с хроническим системным введением ротенона обычно наблюдается два пика максимальной выраженности суммарных признаков паркинсонизма, как правило, на 3-4-е и 28-е сутки с момента первой инъекции нейротоксина (определяется используемой дозой). Первый пик можно объяснить возможным развитием острого обратимого повреждения среднего мозга, второй пик – необратимым повреждением дофаминергических нейронов ЧС [2]. Эти данные должны быть определяющими для решения вопроса о сроках забора материала от животных и начале основного эксперимента по оценке качества той или иной терапии (необходимость получения модели токсического паркинсонизма или моделирование классической БП).

Иначе обстоит дело в моделях с развитием острого ПС. Согласно данным ряда авторов, пик развития характерных клинических симптомов приходится на 2-е сутки после введения нейротоксина, а затем наблюдается постепенное снижение признаков паркинсонизма вплоть до их полного исчезновения безо всякого терапевтического воздействия, например (моделировании ПС путем однократного введения большой дозы ротенона) [10]. Это говорит о неспецифичности

и обратимости повреждения среднего мозга, а также о быстром включении компенсаторных механизмов, направленных на поддержание гомеостаза целостного организма.

Осмотр животных в первоначальном и модифицированном экспериментах выявил быстрое развитие клинических симптомов, характерных для экспериментального ПС с 3-4-х суток от первой инъекции: олигокинезия, птоз верхнего века и сгорбленная поза животного, затем наблюдалось постепенное уменьшение симптоматики с повторным нарастанием их выраженности к 28-м суткам. Отмечено уменьшение степени выраженности изменений после выходных дней, что мы связываем со снижением токсического действия ротенона. Гибель экспериментальных животных в модифицированном эксперименте составила 16,7% (4 крысы из 24), что было даже ниже международных данных. Полученные данные дополнительно указывают на фазовость процесса формирования хронической модели ПС, включающей в себя эффекты от прямого обратимого токсического действия ротенона на организм животных и формирующихся нейродегенеративных

изменений. В группе контроля данные признаки отсутствовали.

В тесте «Открытое поле» у экспериментальных животных по сравнению с группой контроля начиная с 3-х суток введения ротенона выявлено значительное снижение горизонтальной и вертикальной двигательной активности.

После введения растворителя в ЧС головного мозга крысы не выявлено существенных структурных изменений нейронов (рис. 1А). Преобладали нормохромные клетки симметричной формы с равномерно распределенной тигроидной субстанцией. Их ядра имели округлую форму, с крупными ядрышками, располагавшимися обычно в центре ядра. В незначительном количестве обнаруживались гиперхромные и гипохромные нейроны. В отдельных полях зрения встречались нейроны с частичным тигролизом.

Морфология крыс первоначального эксперимента: в ЧС крысы после первоначального ежедневного введения ротенона в дозе 1,75 и 2 мг/кг наблюдали выраженные деструктивные изменения (рис. 1Б). Практически все нейроны имели те или иные признаки патологических из-

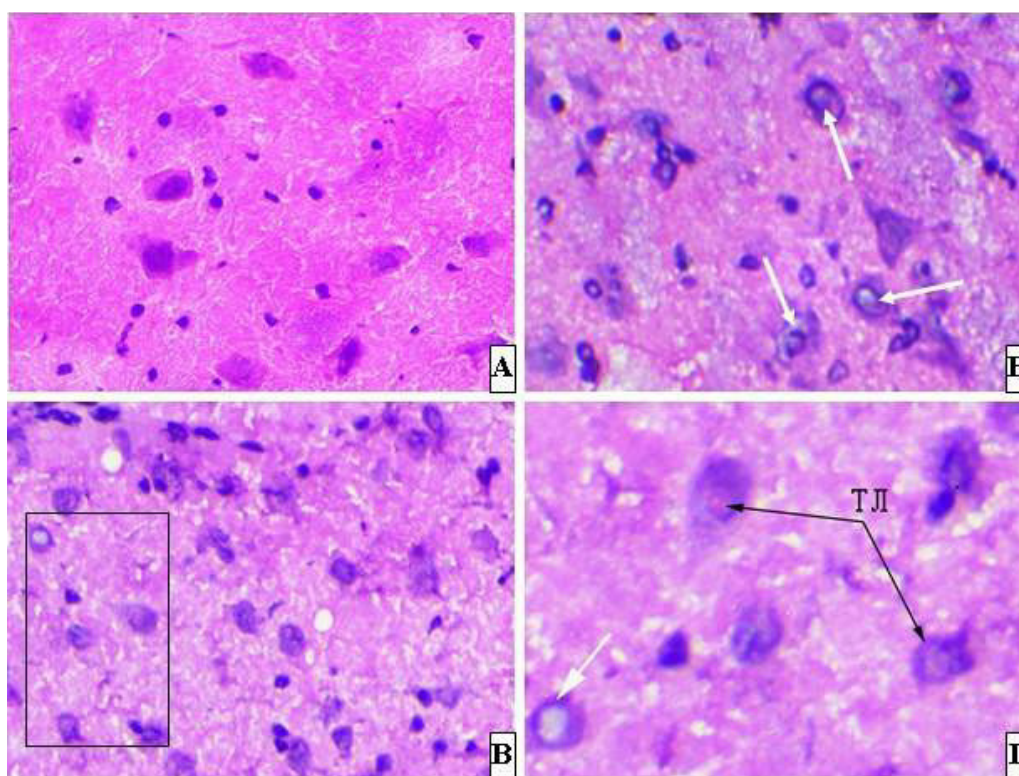


Рисунок 1 – Микрофото фронтальных срезов черной субстанции мозга крысы после введения растворителя (А), ежедневного введения ротенона в дозе 2мг/кг (Б), после уменьшения частоты введения ротенона в дозе 2 мг/кг (В). Г – фрагмент рисунка В. ТЛ – тельца Леви, белые стрелки – вакуоли. Окраска: гематоксилин-эозином. Увеличение: х 400.

менений. Выявлялись как гиперхромные сморщенные нейроны, так и клетки с тигролизом. Отмечалось появление клеток-«теней», в которых слабо контурировались клеточная и ядерная мембраны. В ряде нервных клеток обнаруживалась вакуолизация цитоплазмы и ядер. Аналогичные изменения выявлялись и в стриатуме.

Морфология крыс исправленного эксперимента (рис. 1В): в компактной части ЧС наряду с немногочисленными неизменными нормохромными нейронами наблюдали значительное число клеток с деструктивными и дистрофическими изменениями. Большинство нейронов были гиперхромны, в них не просматривались ядра и ядрышки. В некоторых нейронах обнаруживали полный и частичный тигролиз, характеризующийся распадом или растворением тигроидной субстанции. Наблюдалась вакуолизация нервных клеток. В ряде нейронов обнаружены тельца Леви (рис. 1Г) – морфологические маркеры БП. В области базальных ядер также выявлялось значительное количество патологически измененных нейронов, сморщенных или с тигролизом. Также обнаруживались единичные тельца Леви. Таким образом, мы доказали, что подкожное введение крысам Ротенона в дозе 2 мг/кг в течение 21 суток приводило к развитию деструктивных изменений в нигростриатной системе с образованием телец Леви, что соответствовало патоморфологической картине БП.

Полученные нами в ходе выполнения работы клинические и морфологические данные соответствуют результатам международных исследований [11, 12], что позволяет нам сделать вывод о положительном завершении промежуточных этапов исследования и валидности полученной модели.

Заключение

In vivo, на крысах, получение хронической нейротоксической модели ПС, отражающей классическую симптоматику БП, является сложной задачей, требующей строгого выполнения всех требований к качеству проводимого эксперимента. Соблюдение вышеизложенных методических особенностей при многократном введении довольно болезненного и токсического препарата позволяет свести к минимуму травмирование, стрессирование и гибель экспериментальных животных. При проведении исследований следует различать клинические/морфологические

данные, связанные с обратимым токсическим действием ротенона на экспериментальных животных, а также изменения, вызванные нейродегенеративным процессом. Морфологические данные, полученные при создании хронической модели ПС, основанной на парентеральном введении ротенона, можно использовать при оценке динамики нейродегенеративного процесса под влиянием новых экспериментальных терапевтических воздействий.

Работа осуществлена в рамках выполнения НИОК(Т)Р по заданию 19.17 «Разработать и внедрить метод терапии болезни Паркинсона с использованием клеточных технологий» подпрограммы «Трансплантация клеток, органов и тканей» ГНТП «Новые методы оказания медицинской помощи».

Литература

1. Методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств с противопаркинсонической активностью / Т. А. Воронина [и др.] // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1 / Н. Д. Бутянян [и др.]. – М.: Гриф и К, 2012. – Гл. 13. – С. 219–234.
2. Rotenone, deguelin, their metabolites, and the rat model of Parkinson's disease / P. Caboni [et al.] // Chem. Res. Toxicol. – 2004 Nov. – Vol. 17, N 11. – P. 1540–1548.
3. Модели болезни Паркинсона in vitro / Н. А. Малиновская [и др.] // Науч. аспект. – 2012. – Т. 2, № 4. – С. 193–201.
4. Betarbet, R. Animal models of Parkinson Disease / R. Betarbet, T. B. Sherer, J. T. Greenamyre // Bioessays. – 2002 Apr. – Vol. 24, N 4. – P. 308–318.
5. Иллариошкин, С. Н. Моделирование болезни Паркинсона с использованием индуцированных плюрипотентных стволовых клеток / С. Н. Иллариошкин, Л. Г. Хаспеков, И. А. Гривенников. – М.: РКИ Соверо пресс, 2016. – 183 с.
6. Fate of nigrostriatal neurons in young mature mice given 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine: a neurochemical and morphological reassessment / G. A. Ricaurte [et al.] // Brain Res. – 1986 Jun. – Vol. 376, N 1. – P. 117–124.
7. Time course and morphology of dopaminergic neuronal death caused by the neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine / V. Jackson-Lewis [et al.] // Neurodegeneration. – 1995 Sep. – Vol. 4, N 3. – P. 257–269.
8. Rotenone Model of Parkinson Disease. Multiple brain mitochondria dysfunctions after short term systemic rotenone intoxication / A. Panov [et al.] // J. Biol. Chem. – 2005 Dec. – Vol. 280, N 51. – P. 42026–42035.
9. Анисимов, С. В. Клеточная терапия болезни Паркинсона / С. В. Анисимов. – СПб.: Изд-во Н-Л, 2014. – 320 с.
10. Thiffault, C. Increased striatal dopamine turnover following acute administration of rotenone to mice / C. Thiffault, J. W. Langston, D. A. Di Monte // Brain Res. – 2000 Dec. – Vol.

- 885, N 5. – P. 283–288.
11. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease / R. Betarbet [et al.] // Nat. Neurosci. – 2000 Dec. – Vol. 3, N 12. – P. 1301–1306.
12. Subcutaneous rotenone exposure causes highly selective dopaminergic degeneration and alpha-synuclein aggregation / T. B. Sherer [et al.] // Exp. Neurol. – 2003 Jan. – Vol. 179, N 1. – P. 9–16.

*Поступила 26.09.2018 г.
Принята в печать 29.11.2018 г.*

References

1. Voronina EA, Val'dman LN, Nerobkova, Kapitsa IG. Guidelines for preclinical study of drugs with anti-Parkinsonian activity. V: Seredenin SB, Khaitov RM, Anokhina IP, Archakov AI, Ramnbykov VA, Gintsburg AL, i dr. Rukovodstvo po provedeniiu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv Ch 1. Moscow, RF: Grif i K; 2012. Gl 13. P. 219-34. (In Russ.)
2. Caboni P, Sherer TB, Zhang N, Taylor G, Na HM, Greenamyre JT, et al. Rotenone, deguelin, their metabolites, and the rat model of Parkinson's disease. Chem Res Toxicol. 2004 Nov;17(11):1540-8.
3. Malinovskaya NA, Morozova GA, Kuvacheva NV, Gasymly ED. Models of Parkinson's disease in vitro. Nauch Aspekt. 2012;2(4):193-201. (In Russ.)
4. Betarbet R, Sherer TB, Greenamyre JT. Animal models of Parkinson Disease. Bioessays. 2002 Apr;24(4):308-18. doi: 10.1002/bies.10067
5. Illarionovskiy SN, Khaspekoy LG, Grivennikov IA. Simulation of Parkinson's disease using induced pluripotent stem cells. Moscow, RF: RKI Sovero press; 2016. 183 p. (In Russ.)
6. Ricaurte GA, Langston JW, Delaney LE, Irwin I, Peroutka SJ, Forno LS. Fate of nigrostriatal neurons in young mature mice given 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine: a neurochemical and morphological reassessment. Brain Res. 1986 Jun;376(1):117-24.
7. Jackson-Lewis V, Jakowec M, Burke RE, Przedborski S. Time course and morphology of dopaminergic neuronal death caused by the neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. Neurodegeneration. 1995 Sep;4(3):257-69.
8. Panov A, Dikalov S, Shalbuyeva N, Taylor G, Sherer T, Greenamyre JT. Rotenone Model of Parkinson Disease. Multiple brain mitochondria dysfunctions after short term systemic rotenone intoxication. J Biol Chem. 2005 Dec;280(51):42026-35. doi: 10.1074/jbc.M508628200
9. Anisimov SV. Cell therapy for Parkinson's disease stem cells. Saint-Petersburg, RF: Izd-vo N-L; 2014. 320 p. (In Russ.)
10. Thiffault C, Langston JW, Di Monte DA. Increased striatal dopamine turnover following acute administration of rotenone to mice. Brain Res. 2000 Dec;885(5):283-8.
11. Betarbet R, Sherer TB, MacKenzie G, Garcia-Osuna M, Panov AV, Greenamyre JT. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. Nat Neurosci. 2000 Dec;3(12):1301-6. doi: 10.1038/81834
12. Sherer TB, Kim JH, Betarbet R, Greenamyre JT. Subcutaneous rotenone exposure causes highly selective dopaminergic degeneration and alpha-synuclein aggregation. Exp Neurol. 2003 Jan;179(1):9-16.

*Submitted 26.09.2018
Accepted 29.11.2018*

Сведения об авторах:

Алейникова Н.Е. – аспирант кафедры неврологии и нейрохирургии, Белорусская медицинская академия последипломного образования;

Бойко А.В. – к.м.н., докторант кафедры неврологии и нейрохирургии, Белорусская медицинская академия последипломного образования;

Нижегородова Д.Б. – к.б.н., ведущий научный сотрудник отдела иммунологии и биомедицинских технологий научно-исследовательской лаборатории, Белорусская медицинская академия последипломного образования;

Пономарев В.В. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой неврологии и нейрохирургии, Белорусская медицинская академия последипломного образования;

Ванслав М.И. – младший научный сотрудник отдела иммунологии и биомедицинских технологий НИЛ, Белорусская медицинская академия последипломного образования;

Устемчук А.М. – младший научный сотрудник НИЛ, Белорусская медицинская академия последипломного образования;

Игнатович Т.В. – младший научный сотрудник отдела иммунологии и биомедицинских технологий НИЛ, Белорусская медицинская академия последипломного образования;

Кузнецова Т.Е. – к.б.н., старший научный сотрудник, Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси;

Гладкова Ж.А. – научный сотрудник лаборатории нейрофизиологии, Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси;

Зафранская М.М. – д.м.н., главный научный сотрудник отдела иммунологии и биомедицинских технологий НИЛ, Белорусская медицинская академия последипломного образования.

Information about authors:

Aleinikava N.Y. – postgraduate of the Chair of Neurology & Neurosurgery, Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education;

Boika A.V. – Candidate of Medical Sciences, doctoral candidate of the Chair of Neurology & Neurosurgery, Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education;

Nizheharodava D.B. – Candidate of Biological Sciences, leading research officer of the immunology and biomedical technologies department of the Scientific-Research Laboratory, Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education;

Ponomarev V.V. – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Chair of Neurology & Neurosurgery, Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education;

Vanslau M.I. – associate research officer of the immunology and biomedical technologies department of the Scientific-Research Laboratory, Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education;

Ustiamchuk A.M. – associate research officer of the immunology and biomedical technologies department of the Scientific-Research Laboratory, Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education;

Ihnatovich T.V. – associate research officer of the Scientific-Research Laboratory, Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education;

Kuznetsova T.Y. – Candidate of Biological Sciences, senior research officer of the Institute of Physiology, Belarusian National Academy of Sciences;

Hladkova Z.A. – research officer of the Neurophysiology Laboratory of the Institute of Physiology, Belarusian National Academy of Sciences;

Zafranskaya M.M. – Doctor of Medical Sciences, principal research officer of the immunology and biomedical technologies department of the Scientific-Research Laboratory, Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 220013, г. Минск, ул. П. Бровки, 3, корп. 3, Белорусская медицинская академия последипломного образования. E-mail: aboika@tut.by – Бойко Александр Васильевич.

Correspondence address: Republic of Belarus, 220013, Minsk, 3-3 P. Brovki str., Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education. E-mail: aboika@tut.by – Aliaksandr V. Boika.